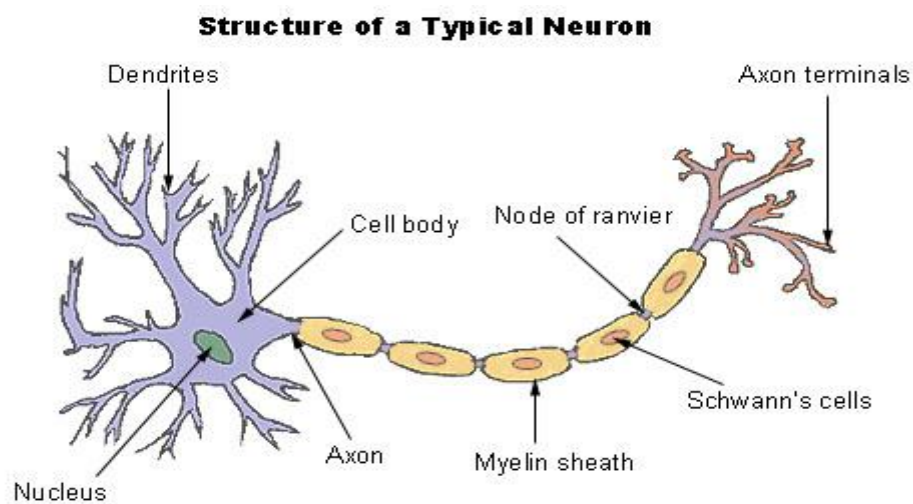


# MULTIPPEL SKLEROSE

## Har Platelet-derived growth factor (PDGF) effekt på remyelinisering?



(<http://www.web-books.com/eLibrary/Medicine/Physiology/Nervous/neuron.jpg>)

Prosjektoppgave i profesjonsstudiet i medisin

Universitetet i Oslo 2010

Thao Ho, Kull V05

Veileder: Joel Glover

## **INNHold**

<b>ABSTRAKT.....</b>	<b>s.3</b>
<b>INNLEDNING.....</b>	<b>s.4</b>
<b>BAKGRUNN.....</b>	<b>s.5 - 13</b>
<b>MYELING, STRUKTUR OG FUNKSJON.....</b>	<b>s.5 - 8</b>
<b>MULTIPPLE SKLEROSE.....</b>	<b>s.8 - 13</b>
<b>ETIOLOGI.....</b>	<b>s.8 - 9</b>
<b>FORLØP.....</b>	<b>s.10 - 11</b>
<b>DIAGNOSEN.....</b>	<b>s.11 - 12</b>
<b>BEHANDLING.....</b>	<b>s.12 - 13</b>
<b>METODE.....</b>	<b>s.14</b>
<b>RESULTAT.....</b>	<b>s.15 - 18</b>
<b>DISKUSJON.....</b>	<b>s.19 - 22</b>
<b>KONKLUSJON.....</b>	<b>s.23</b>
<b>REFERANSER.....</b>	<b>s.24 - 26</b>

## **ABSTRACT**

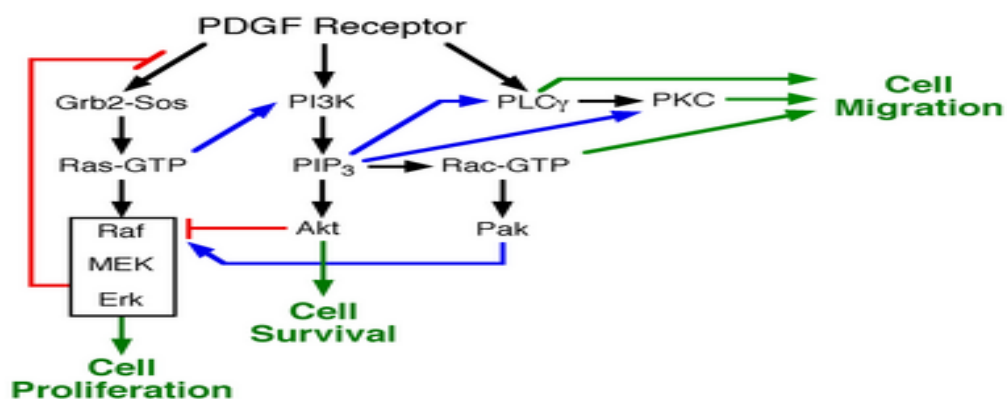
Multiple sclerosis (MS) is chronic inflammatory disease of the central nervous system, which destroys myelin and the oligodendrocytes that produce it, and thereby disrupts the normal conduction of central axons. Remyelination can occur, but this capacity becomes limited with repeated or chronic demyelinating episodes and results in neurologic disability.

The aim of this literature study is to examine the effect of the growth factor, Platelet-derived growth factor (PDGF), on remyelination. Knowledge about the role of PGDF and other trophic factors in regulating remyelination may lead to future therapeutic strategies to enhance remyelination caused by MS and other demyelinating diseases.

Several studies in vitro have shown that PDGF can contribute to regulate oligodendrocyte progenitor (OP) proliferation, differentiation and survival in demyelinating lesions. But the response of human oligodendrocytes to PDGF is not well defined. There are a lot of questions which remain to be answered, and these are attracting much new research. For this reason there is some promise that treatments of MS that involve the promotion of myelin repair by PDGF will be discovered in the future.

## INNLEDNING

Myelin er nødvendig for normal funksjon i nervesystemet hos virveldyr. MS er en demyeliniserende sykdom hvor myelinet blir skadet og nedbrutt. Hos MS-pasienter skjer det en spontan fornying av myelinet, men denne prosessen blir begrenset når det skjer repeterende eller forlengende episoder av demyelinisering (Vana et al. 2007). Dette fører til nevrologiske dysfunksjoner fordi myelin er nødvendig for normal impulsledning i aksoner. I mange år har forskere arbeidet for å forstå hvordan myelinet er dannet, nedbrytet og reparert. Kunnskap om disse prosessene kan gi et grunnlag for potensielle terapier som medfører remyelinisering av aksoner, og derved gjenvinner normale funksjoner som holder på å gå tapt eller har gått tapt hos MS-pasienter. Svikt av remyelinisering kan blant annet være forårsaket av oligodendrocytters begrenset tilgjengelighet, minsket proliferasjon og migrasjonskapasitet til oligodendrocyttenes forstadieceller, oligodendrocytt progenitorcellene (OPC), eller begrenset myeliniseringsevne til oligodendrocyttene. Et mulig terapeutisk område som har fått stor oppmerksomhet er hvordan man kan påvirke OPCenes migrasjon, modning og overlevelsessevne slik at de kan danne nye oligodendrocytter og derved nytt myelin. Man har funnet ut at det finnes umodne OPCer i vår hjerne som kan proliferere. Vekstfaktorer, cytokiner og celled adhesjonsmolekyler kan regulere differensiering av OPCer til remyeliniserende oligodendrocytter (Armstrong et al. 2006). I denne oppgaven vil man fokusere på et av disse molekylerne, "platelet-derived growth factor" (PDGF) (**Fig.1**). Man vil se på om PDGF har noe innvirkning på OPCenes evne til proliferasjon og differensiering til remyeliniserende oligodendrocytter, og noe innvirkning på oligodendrocyttenes overlevelse.

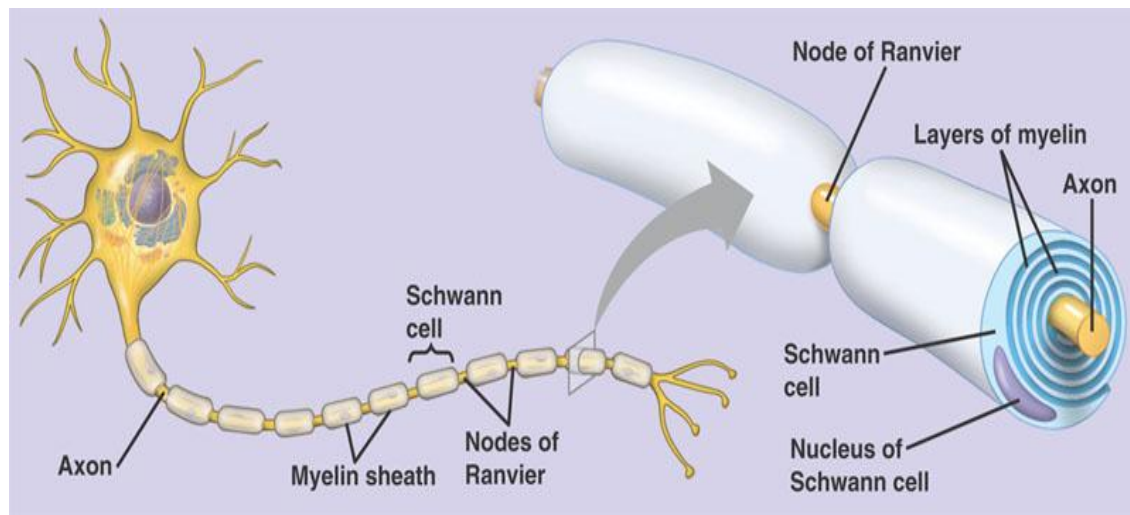


**Fig.1** PDGF signalering. Skjematisk oversikt av de intracellulære signalveiene som kan føre til celledvekst, overlevelse og migrasjon ved PDGF stimulering ([http://www.che.ncsu.edu/images/jmh\\_group.png](http://www.che.ncsu.edu/images/jmh_group.png)).

## BAKGRUNN

### Myelin – struktur og funksjon

Myelin dannes av brede, flate utløpere fra gliaceller som kveiles rundt aksoner til et flerlaget omkledning (**Fig.2**). Fordi cytoplasme-innholdet i disse flatene er bortimot null består myelinet nesten utelukkende av cellemembran og er derved i grunn et fettlag av fosfolipider som danner en effektiv elektrisk isolasjon. Mange (men ikke alle) aksoner i nervesystemet blir omgitt av myelin. Disse aksonene kalles myeliniserte aksoner og har relativt høye impulsledningshastigheter, mens aksoner som mangler myelin kalles umyeliniserte aksoner og har lavere impulsledningshastighet (Brodal 2003).



**Fig.1:** Bildet viser en nervecelle med myelinisert akson, schwannske celler og Ranviersk innsnøring. ([http://kvhs.nbed.nb.ca/gallant/biology/schwann\\_myelin.jpg](http://kvhs.nbed.nb.ca/gallant/biology/schwann_myelin.jpg))

Gliaceller utgjør omtrent halvparten av nervesystemets volum. De danner et beskyttende støtteverk rundt nervecellene i sentralnervesystemet, og er også med på å holde den kjemiske sammensetningen av væske rundt nervecellene stabil. Alle gliaceller i det perifere nervesystemet (PNS) er av en type, Schwannske celler, som danner myelin rundt aksoner i perifere nerver. Til forskjell er det fire forskjellige typer gliaceller i det sentrale nervesystemet (SNS) (Brodal 2003):

1 Astrocyttene er de mest tallrike, og ligger spredt rundt i grasubstansen. De har flere funksjoner, blant annet danner de blod-hjerne-barrieren og de regulerer det kjemiske miljøet rundt nerveceller og

synapser.

- 2 Oligodendrocyttene ligger hovedsaklig i hvitsubstans og danner myelin rundt sentrale aksoner.
- 3 Mikroglia-celler er immunceller – hjernens makrofager.
- 4 Ependymceller er celler som kler ventrikkelsystemet i hjernen og spinalkanalen.

Her vil man hovedsakelig ta for seg oligodendrocytter som har som sin hovedoppgave å isolere aksoner i SNS.

Orddelen ”oligodendro-” kommer fra gresk og betyr ”flergrenet”. Hver oligodendrocytt har flere grener, og hver gren danner en flate som kan omgi et akson (Nolte 1995). Antall aksoner som blir myelinisert av en enkel oligodendrocytt kan variere mellom 3 og 200 (Waxman et al. 1990). Hver flate omgir et akson i en viss lengde, slik at aksoner isoleres i sin helhet ved at flater fra mange oligodendrocytter danner myelin i korte strekninger i rekkefølge, uten overlapping. Akson-lengden som dekkes av hver flate kan være fra 100  $\mu\text{m}$  til 1 mm. Der to flater møter hverandre finnes det en ørliten spalte uten myelin som kalles for en Ranviersk innsnøring, eller ”node” (of Ranvier) (**Fig.1**). Myelinsegmentene som ligger mellom to noder kalles internoder (Brodal 2003).

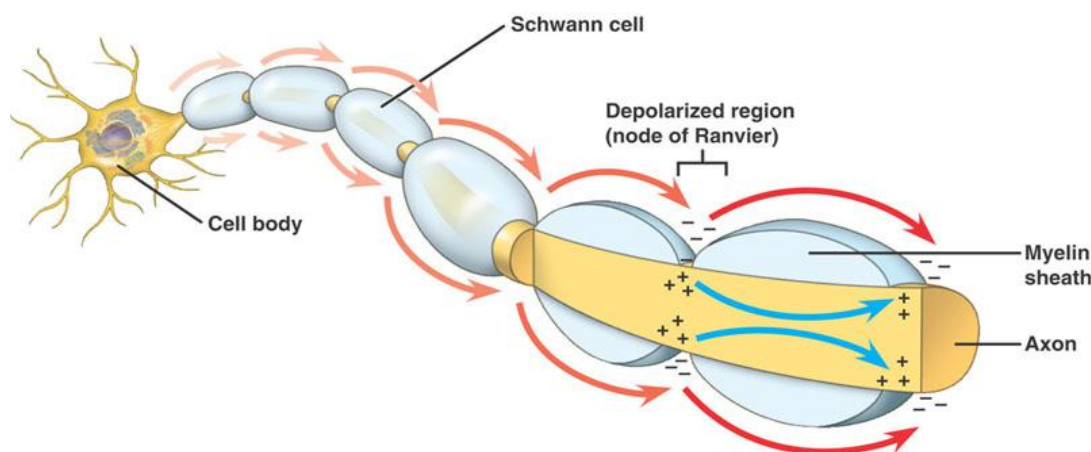
Funksjonen til myelinet er tett knyttet opp til mekanismene som danner en nerveimpuls (Brodal 2003). For å sette igang en nerveimpuls er det nødvendig med en spenningsforskjell mellom cytosolen og væsken utenfor nervecellen. Denne spenningsforskjellen kalles membranpotensialet.

Membranpotensialet betegnes negativt fordi innsiden av cellen har et negativt elektrisk potensial i forhold til utsiden. Potensialet skapes ved at et fåtall negative ioner på innsiden er separert fra sine positive makkerer på utsiden. Dette skyldes at membranen er mer permeabel for  $\text{K}^+$  enn de aller fleste andre ioner ( $\text{Cl}^-$  er et mottak) og at konsentrasjonen av  $\text{K}^+$  er større i cytosol enn på utsiden, slik at  $\text{K}^+$  har en tendens til å diffunderer ut av cellen. Denne diffusjonen gjør at  $\text{K}^+$  drives vekk fra store anioner som er fanget på innsiden. Denne diffusjonsdrevet separasjon av elektriske ladninger skaper et potensial der innsiden er negativ, og dette potensialet i sin tur begrenser diffusjon av  $\text{K}^+$  utover fordi  $\text{K}^+$  blir da elektrisk tiltrukket av de negative ladninger på innsiden. Når såpass mye  $\text{K}^+$  har diffundert ut av cellen at det skapes et negativt potensial som akkurat oppveier diffusjonstendensen, når situasjonen en stabil tilstand (”steady-state”) og et stabilt membranpotensial dannes. Konsentrasjonsforskjellen mellom cellens innside og utside for  $\text{K}^+$  opprettholdes av en  $\text{Na}^+$ -

K<sup>+</sup>-pumpe, hvor Na<sup>+</sup> blir pumpet ut og K<sup>+</sup> inn i cellen. Alle celler har et hvilemembranpotensial, og hos nerveceller ligger dette mellom -70 og -80 mV (Brodal 2003, Sand et al. 2005).

Nervesystemet bruker aksjonspotensialene for å sende informasjon. Et aksjonspotensial starter med at ionekanalporter åpnes og fører til innstrømming av Na<sup>+</sup> og Ca<sup>2+</sup> slik at membranpotensialet blir mer positivt, d.v.s. at membranen blir depolarisert. Når membranpotensialet derved overstiger en terskelverdi på omtrent -60 mV, utløses det et aksjonspotensial. Aksjonspotensialet er en alt-eller-intet reaksjon. Det vil si at det er uavhengig av stimulusstyrken så lenge det er nådd terskeverdien.

Aksjonspotensialet kalles for en nerveimpuls i nerveceller. På utsiden av aksonet der Na<sup>+</sup> strømmer inn i det aktiverte området, vil det være mindre positiv ladning enn i naboområdene. Av denne grunn skjer det en mobilisering av positive ioner til dette mindre positive området, mens på innsiden strømmer positive ladninger til naboområdene. Det skjer også en lekkasje av positive ioner, hovedsakelig K<sup>+</sup>, ut av aksonet gjennom naboområdene. For at et nerveimpuls kan ledes videre langs aksonet er strømmen av positive ioner i aksonet nødvendig. Når en strøm av positive ioner kommer til naboområdet vil det depolarisere membranen, og spenningsstyrte Na<sup>+</sup>-kanalene i membranen vil åpnes. Na<sup>+</sup> vil da strømme inn, og prosessen forflyttes og gjentas i naboområdene (Brodal 2003, Sand et al. 2005) (**Fig.2**).



**Figur 2.** Figuren viser hvordan en nerveimpuls forplanter seg bortover en myelinisert nervecelle.

([http://frashdi.files.wordpress.com/2009/07/saltatory\\_conduction.jpg](http://frashdi.files.wordpress.com/2009/07/saltatory_conduction.jpg))

Når et akson er myelinisert, vil ladningslekkasjen reduseres fordi ladningslekkasje skjer hovedsakelig ved de Ranvierske innsnøringer. Positiv ionestrøm i aksoner vil derfor kunne strømme over lengre avstander enn i umyeliniserte aksoner. Innstrømming av Na<sup>+</sup> foregår også i disse Ranvierske

innsnøringene, slik at aksjonspotensialet oppstår sprangvis (saltatorisk konduksjon).

Ledningshastigheten kan av denne grunn bli svært høy, selv i tynne aksoner. Ledningshastigheten kan komme opp i over 100 m/s (Brodal 2003, Sand et al. 2005). Myelinisering av aksoner er derfor meget viktig for rask impulstrafikk og har bidratt til utviklingen av hjernekapasitet hos virveldyr (Sand et al. 2005).

## **Multipel sklerose**

Multipel sklerose (MS) er en kronisk inflammatorisk, demyeliniserende sykdom i sentralnervesystemet (Multipel sklerose: <http://www.legehandboka.no/>, Myhr 2007).

Vanlig alder for symptomdebut er 20-45 år (omtrent 70% av tilfeller). Sykdommen er hyppigere hos kvinner enn hos menn (2:1). (Multipel sklerose: <http://www.legehandboka.no/>, Sørensen 2004) .

Prevalensen varierer med geografi og rase. Den er høy i den hvite befolkningen i tempererte regioner eksempelvis i Nord- Europa og Nord-Amerika, og lav i tropiske områder. (Multipel sklerose: <http://www.legehandboka.no/>, Sørensen 2004). Insidens i Skandinavia omlag 5 per 100.000 (Multipel sklerose: <http://www.legehandboka.no/>).

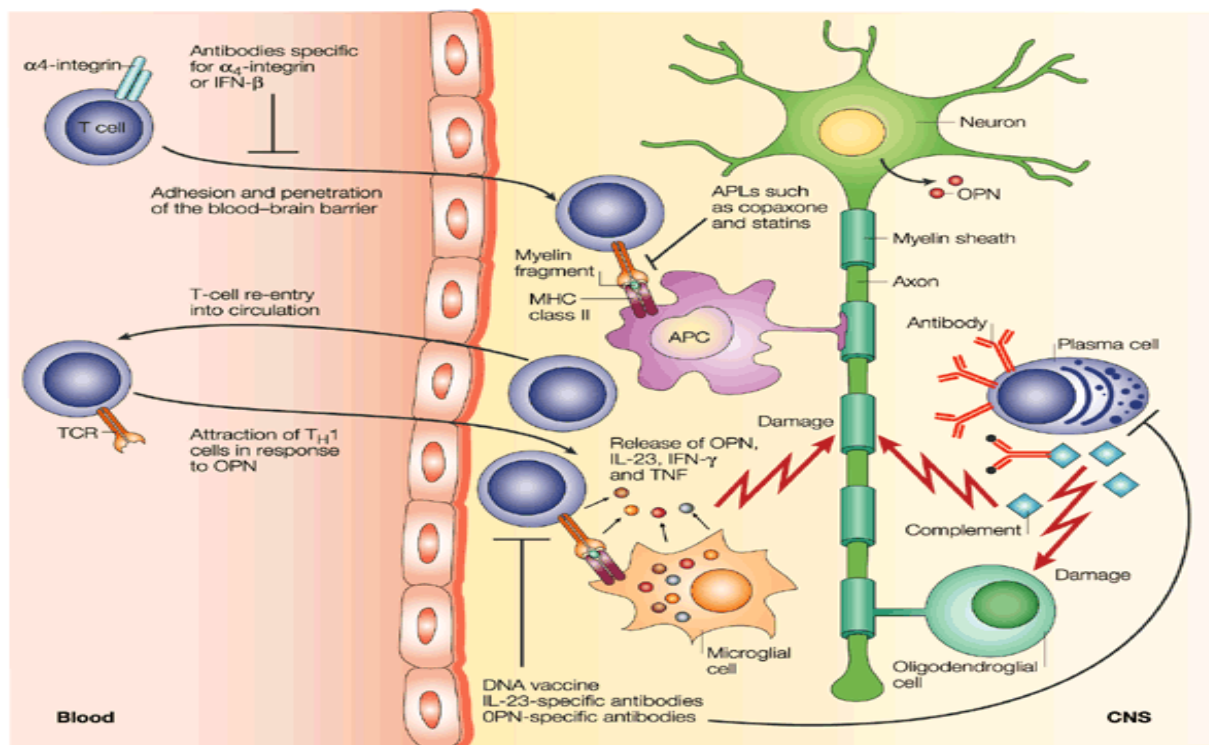
## **Etiologi**

Etiologien er ukjent. Sykdommen kan være genetisk betinget og oppstår i en kombinasjon med eksponering for en eller flere miljøfaktorer, infeksjoner eller andre ytre agens. Dette leder til inflammasjon rundt myelinskjeden og fører også til destruksjon. Ca 15 % av de som har MS har en slektning med MS. MS er assosiert med vevstypen HLA DR2. Personer med denne vevstypen har 3 ganger høyere risiko for å få sykdommen i forhold til andre. Vitamin D status, virusinfeksjon (hovedsakelig Epstein-Barr virus), sigarettøyking, traume, stress og klima synes å være disponerende faktorer for MS. (Multipel sklerose: <http://www.legehandboka.no/>, Myhr 2007, Sørensen 2004) .

Patogenesen ved multipel sklerose kan skyldes at autoaggressive T-hjelpe lymfocytter gjenkjenner myelin basisk protein (MBP), eller andre antigener i SNS. Disse aktiverte immuncellene krysser blod-hjerne-barrieren og danner en lokal inflammatorisk prosess (Multipel sklerose: <http://www.legehandboka.no/>, Sørensen 2004). Dette fører til en frisetting av immunologisk aktive stoffer som skader myelin og aksoner. Det finnes forskjellige hypoteser som forklarer hva som utløser denne kaskaden (Sørensen 2004).



En hypotese foreslår at en form for systemisk infeksjon kan forårsake oppregulering av adhesjonsmolekyler på overflaten av T-hjelper celler og endotelceller ved blod-hjerne-barrieren. Oppreguleringen kan føre til at cellene fester seg til og penetrerer endotelcellene. Når de har kommet til SNS, startes det en lokal betennelsesprosess med frisetting av immunologisk aktive stoffer. Dette medfører åpning av blod-hjerne-barrieren med lekkasje av monocyttar og andre inflammatoriske celler fra blodet, samt sirkulerende antistoffer og inflammasjonsfremmende stoffer. Makrofager og mikroglia produserer aktive substanser som enzymer, cytokiner, kjemokiner osv. Disse stimulerer andre inflammatoriske celler og lager skader på myelinkjeder og oligodendrocytter (Sørensen 2004) (Fig.3).



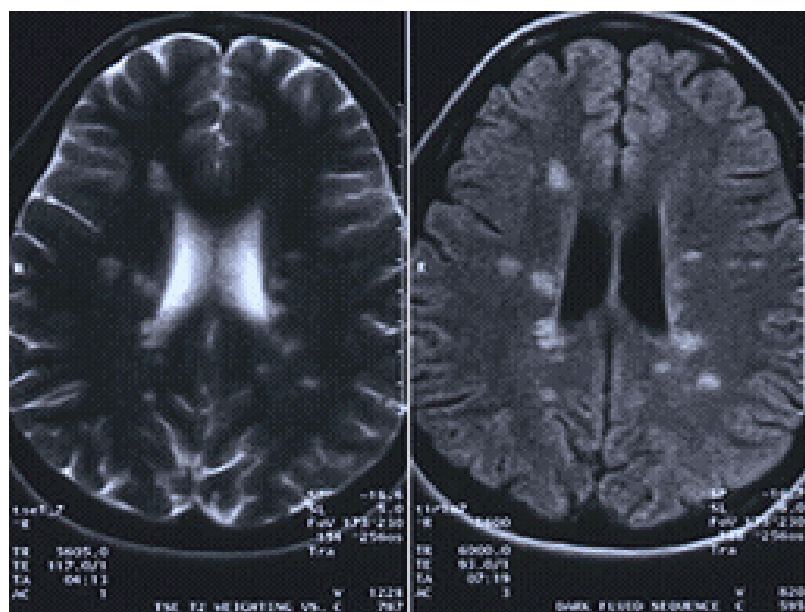
**Figure 3.** En forenklet skjematisk tegning av immunpatogenese ved MS.

<http://www.nature.com/nri/journal/v3/n6/images/nri1108-f1.gif>

En annen hypotese er at det er oligodendrocyttød og endring i myelinskjeden som primært initierer makrofagaktivitet og som deretter utløser og forsterker den inflammatoriske responsen (Multippel sklerose: <http://www.legehandboka.no/>).

MS rammer hvit substans i SNS som består hovedsaklig av aksoner og myelin (Multippel sklerose:

<http://www.legehandboka.no/>). Den enkelte lesjon kalles et *plakk* og varierer i størrelse fra mm til noen cm, og kan oppstå på multiple steder (Sørensen 2004) (**Fig.4**). I et slik plakk ser man perivaskulær inflammasjon og demyelinisering. Det går også skade på aksonet og en delvis nedbrytning av cellene slik at hele nerveceller kan dø. Prosessen kan være selvbegrensende ved at det oppstår reparasjon, med nydanning av myelin og arrvevsdannelse. Den systemiske aktiveringen av autoreaktive T-celler opphører og inflammasjonshemmende cytokiner oppreguleres. Dersom lesjonene blir store kan det bli dannet arrvev.



**Figur 4.** MR skanning av hjernen som viser demyeliniserende plakk (hvite flekker i området rundt ventriklene).

<http://www.imaginis.com/multiple-sclerosis/graphics/t2andtflair.gif>

## Forløp

De kliniske symptomene ved MS skyldes demyelinisering av aksoner som fører til nedsatt ledningsevne. Symptomene er varierende fordi de er avhenging av hvilke områder i SNS som er affisert, og hvor stor myelinskade det er. De vanligste startsymptomene er tåkesyn ved optikusnevritt, diplopi, ekstremitetsparese, sensibilitetsforstyrrelser og vannlatingsforstyrrelse. Hukommelse, konsentrasjon og kognitiv funksjon kan også bli affisert, men oftes senere i forløpet. Tidsaspektet for utviklingen av symptomer kan variere. De kan opptre i løpet av minutter, timer, dager, uker eller måneder (Sørensen 2004) .

Vi kaller de kliniske episodene for *attakker*. Perioden mellom attakker kalles for *remisjon*. Det tidlige

sykdomsforløpet deles inn i to hovedgrupper etter lengden på attackintervallene. Når MS forekommer anfallsvis kalles det ”*Relapsing-remitting*”-MS. Det utgjør hovedandelen av MS pasienter, med 80-90 % av tilfellene. I denne gruppen debuterer symptomene plutselig og med helt eller delvis remisjon. Etter omlag 15 år vil halvparten av pasienter med relapserende-remitterende-MS gå over til *sekundær progressiv MS*. Disse pasientene vil få en konstant gradvis forverring av symptomer og tiltagende permanent skade. Om lag 20 % av pasientene vil kunne få normal livslengde med få eller ingen permanent invaliditet. Den andre gruppen, *primær progressiv MS*, omfatter de pasientene som debuterer med et langsomt og jevnt progredierende forløpsform, uten angrep. Disse utgjør 10-20 % av MS pasienter (Multippel sklerose: <http://www.legehandboka.no/>, Sørensen 2004) .

Pasienter som debuterer med sykdom i ung alder og som har få akutte angrep, har oftest et mer godartet forløp. Sammenlignet med normal befolkningen vil MS-pasienter ha forkortet levealder på 8 til 10 år ( Sørensen 2004).

## Diagnosen

Diagnosen stilles på grunnlag av sykehistorie og funn ved klinisk nevrologisk undersøkelse. Dette forutsettes at andre årsaker til symptomer er utelukket. Diagnosen støttes av tilleggsundersøkelser med MR og elektroforese av spinalvæske med påvisning av oligoklonale IgG bånd (Multippel sklerose: <http://www.legehandboka.no/>, Sørensen 2004) .

Diagnostiske kriterier:

Kliniske angrep	Objektive lesjoner	Tilleggskrav for å kunne stille diagnosen
To eller flere	To eller flere	Ingen; kliniske holdepunkter er tilstrekkelig, men MR og spinalvæskeanalyser bør gjennomføres
To eller flere	En	Disseminasjon i rom ved MR <i>eller</i> to eller flere MR-påviste lesjoner forenlig med MS + intratekal IgG-syntese i spinalvæske <i>eller</i> vent på ytterligere kliniske angrep som peker mot annet sted i CNS
Ett	To eller flere	Disseminasjon i <i>tid</i> ved MR <i>eller</i> andre kliniske angrep

Ett - monosymptomatisk	En	Disseminasjon i <i>rom</i> ved MR <i>eller</i> to eller flere MR-påviste lesjoner forenlig med MS + intratekal IgG-syntese i spinalvæske <i>og</i> Disseminasjon i <i>tid</i> ved MR <i>eller</i> andre kliniske angrep
Gradvis neurologisk progresjon som peker mot multipel sklerose		Et år med sykdomsprogresjon (retrospektivt eller prospektivt vurdert) og to av de følgende faktorer: a) Positiv MR av hjernen (ni T2 lesjoner eller fire eller flere T2 lesjoner med positiv VER) b) Positiv MR av ryggmargen (to fokale lesjoner) c) Intratekal IgG-syntese i spinalvæske

Tabellet er hentet fra [www.legehandboka.no](http://www.legehandboka.no), Multipel sklerose

## Behandling

### *Sykdomsmodifiserende behandling*

*Interferon* beta er et protein som deltar i forsvaret mot virusinfeksjoner. Pasienter med relapserende-remitterende-MS har effekt av interferon beta. Med om lag 30 % reduksjon i angrepfrekvensen. (Multipel sklerose: <http://www.legehandboka.no/>, Sørensen 2004) .

*Glatirameracetat* er en blanding av små syntetiske polypeptider. Dette preparatet har en behandlingseffekt tilsvarende til interferon beta hos pasienter med angrepsvis forløp. (Multipel sklerose: <http://www.legehandboka.no/>, Sørensen 2004) .

*Natalizumab* er antistoff mot alfa-4-integriner som hemmer adhesjon og migrasjon av aktiverte immunceller over blod-hjerne-barrieren. Preparatet brukes som monoterapi ved svært aktiv "relapsing-remitting"-MS med høy sykdomsaktivitet og ved raskt utviklende alvorlig "relapsing-remitting"-MS. Natalizumab øker risikoen for progressiv multifokal leukoencefalopati ved økende antall doser (Multipel sklerose: <http://www.legehandboka.no/>).

Immunosupprimerende behandling med *mitoxantron* kan redusere sykdomsaktiviteten ved raskt progredierende og aggressiv sykdom. Men dette kan gi alvorlige bivirkninger med hjerteaffeksjon og leukemi (Multipel sklerose: <http://www.legehandboka.no/>, Sørensen 2004).

Ved akutte angrep kan steroidbehandling forkorte varigheten samt redusere alvorlighetsgraden av de enkelte angrepene. Ved slike angrep brukes ofte metylprednisolon intravenøst, 500-1000 mg / dag i 3 til 5 dager. I de 2-3 påfølgende ukene kan pasientene ta oral prednisolon, 50-200 mg x 2 daglig (Multippel sklerose: <http://www.legehandboka.no/>, Sørensen 2004).

### ***Symptomatisk behandling***

Spastisitet behandles med fysioterapi og strekke-øvelser supplert med medikamenter som baklofen, tizanidin eller diazepam. Uttalt spastisitet kan behandles effektivt med intratekal baklofen (Multippel sklerose: <http://www.legehandboka.no/>, Sørensen 2004).

Ved smerter tilstander slik som trigeminusneuralgi er førstevalgs behandlingen karbamazepin eller gabapentin. Kroniske smerter forekommer hos ca. 30 % av pasientene. Disse smertene er vanskelig å behandle, men her er tricycliske antidepressiva førstevalg. Karbamazepin og gabapentin kan også forsøkes (Multippel sklerose: <http://www.legehandboka.no/>, Sørensen 2004).

Urologiske symptomer, som blæreparese, urge og inkontinens, kan behandles med kateterisering og/eller antikolinergika. Men som bivirkning av antikolinergika kan det være økt sjans for retensjon. (Multippel sklerose: <http://www.legehandboka.no/>, Sørensen 2004). Et annet problem er impotens. Her kan det forsøkes med prostaglandin intrakavernalt eller uretralt, og sildenafil (Multippel sklerose: <http://www.legehandboka.no/>).

SSRI blir ofte brukt ved depresjon. Ved tretthet og slitenhet kan pasientene forsøke amantadin, modafinil eller SSRI (Multippel sklerose: <http://www.legehandboka.no/>).

4- aminipyridin har vist å forbedre gangfunksjonen hos 1 av 3 MS pasienter med forstyrret gangfunksjon (Multippel sklerose: <http://www.legehandboka.no/>).

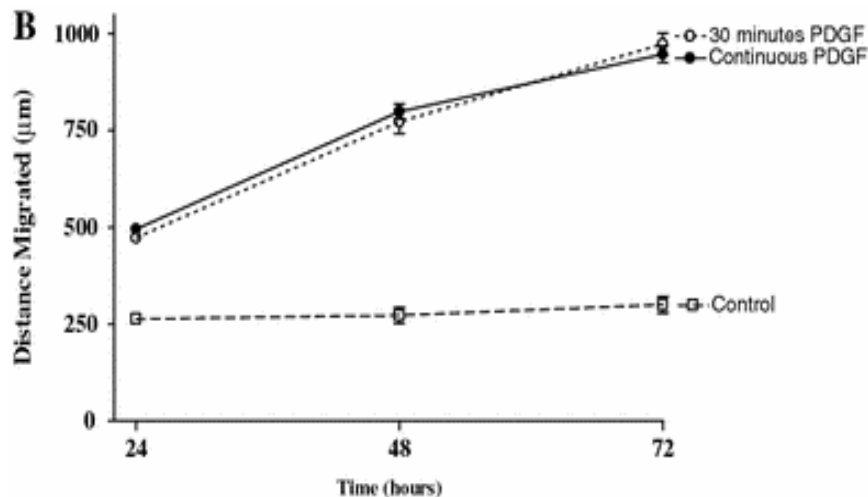
Fysioterapi og daglig aktivitet er viktig for å forebygge reduksjon av motorisk funksjonsnivå (Multippel sklerose: <http://www.legehandboka.no/>, Sørensen 2004).

## **METODE**

Litteratursøket er foretatt i PubMed og Cochrane-databasen. Søkeordene var: "Oligodendrocyte progenitor", "remyelination", "PDGF" og "myelin repair". Man begrenset søket til engelske og norske publikasjoner de ti siste årene. Det er ikke blitt gjort et systematisk søk. Artikkene ble valgt ut etter hvor relevante de var i forhold til oppgaven. Det er tatt i bruk både oversiktsartikler og primærstudier. Man har også sett på hjemmesidene til National Multiple Sclerosis Society, The Multiple Sclerosis Resource Centre, National Institute of Neurological Disorders and Stroke, Myelin Repair Foundation og Neuromuscular Disease Center.

## RESULTAT

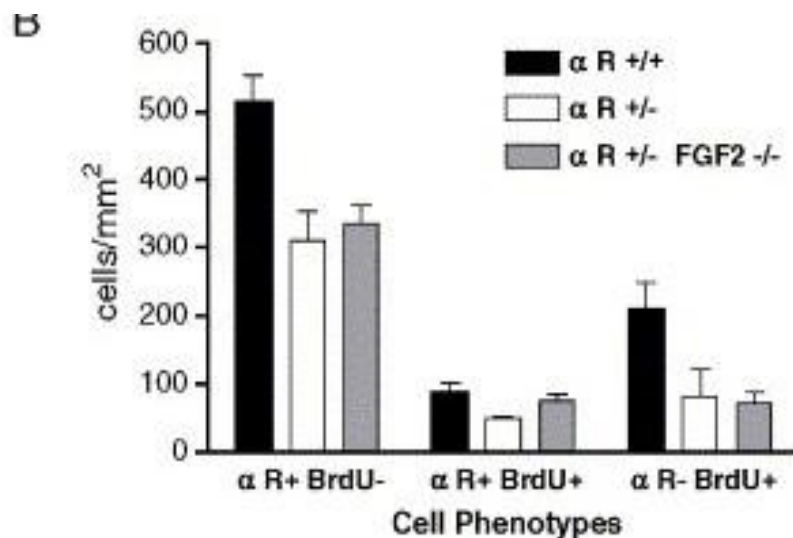
- Remyelinisering finnes både ved primære og progressive sekundære sykdomstilstander (Piaton et al. 2009, Patrikos et al. 2006).
- Antall nydannede oligodendrocytter i demyeliniserende lesjoner reduseres med varigheten av sykdommen (Vana et al. 2007, Armstrong et al. 2006, Chang et al. 2002).
- Oligodendrocytt forstadieceller ("oligodendrocyte progenitor cells", OPC) er funnet i høye konsentrasjoner i subventrikulære sonen (SVZ) i hjernen (Gallo et al. 2008).
- OPC kan migrere fra SVZ til forskjellige deler av hjernen i respons til demyelinisering (Gallo et al. 2008, Armstrong 2007).
- OPC kan produseres fra embryonale stamceller (Miller et al. 2007).
- Remyelinisering begrenses av kronisk sykdom som reduserer antall OPC (Armstrong 2007).
- Vekstfaktorer kan regulere OPCenes proliferasjon, differensiering og overlevelse i demyeliniserende lesjoner (Armstrong 2007, Miller et al. 2007).
- PDGF ("platelet-derived growth factor") kan stimulere mobiliseringen av OPC (Frost et al. 2009, Piaton et al. 2009) (**Fig.5**).



**Fig.5** Grafen viser migrasjonsdistansen til oligodendrocytt forstadiaceller (OPC) under påvirkning av PDGF sammenlignet med kontrollgruppen uten PDGF. Kontrollgruppen migrerte ikke. OPC som var utsatt for PDGF i 30 min eller kontinuerlig hadde omtrent samme migrasjonsavstand. (Frost et al 2009)

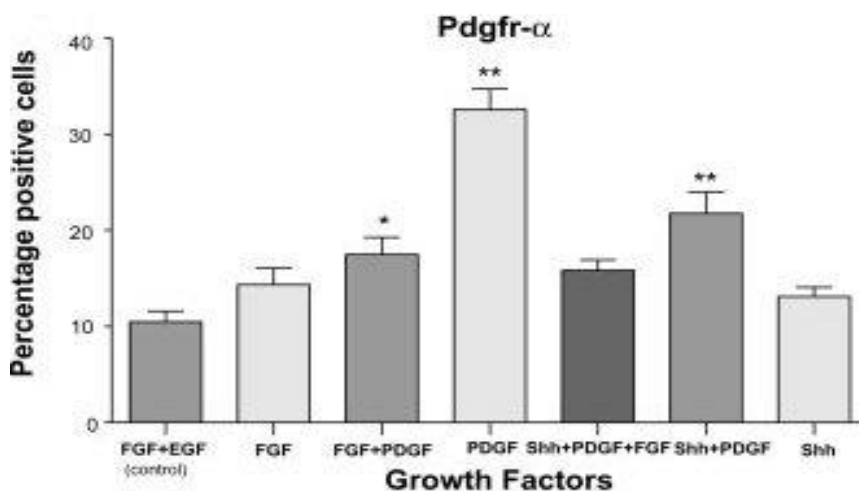
- PDGF har en viktig rolle i fordeling av OPC under utviklingen av SNS (Frost et al. 2009).
- PDGF er et nødvendig endogent mitogen for oligodendrocytter i SNS hos voksne (Piaton et al 2009, Murtie et al.2005, Armstrong et al.2007)
- PDGF og FGF2 ("fibroblast growth factor 2") kan indusere oligodendrocytt-proliferasjon (Frost et al. 2002, Miller et al. 2007).
- Ved demyelinisering in vivo finner man at når PDGF-A har lavere ekspresjon vil proliferasjonen av OPC også være lavere (Murtie et al. 2005) (**Fig.6**).





**Fig.6.** Redusert OPC tetthet og proliferasjon hos PDGFaR homozygote (svart), PDGFaR heterozygote (hvit) og PDGF<sup>-/-</sup> FGF2<sup>-/-</sup> (grå) mus. OPC som enten ikke hadde delt seg i løpet av de siste 4 timer før avliving ( $\alpha R+ BrdU-$ ) eller hadde delt seg i løpet av de siste 4 timer før avliving ( $\alpha R+ BrdU+$ ) var klart sjeldnere hos PDGFaR heterozygoter enn hos homozygoter. Andre celler enn OPC som hadde delt seg i løpet av de siste 4 timer før avliving ( $\alpha R- BrdU+$ ) var også redusert hos PDGFaR heterozygoter sammenlignet med homozygoter. Manglende FGF2 ekspresjon ga ingen tilleggseffekter (Murtie et al 2005).

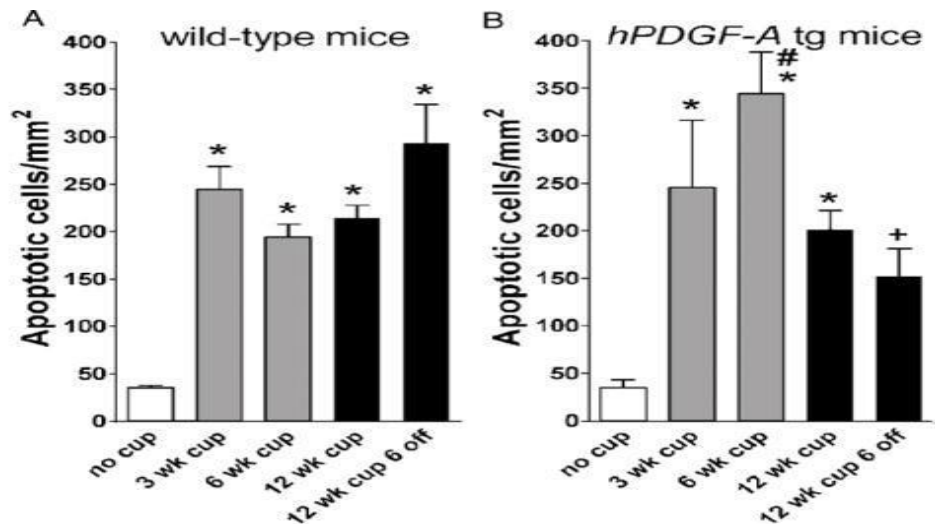
- PDGF alene eller i kombinasjon med sonic hodgehog (SHH) stimulerer multipotente nevrale forstadieceller til å gjennomgå proliferasjon og øke celleantallet (Gibney et al. 2007) (**Fig.7**).



**Fig.7.** Grafen viser andelen av oligodendrocytt forstadieceller som har blitt differensiert

fra multipotente nevrale stamceller eksponert for forskjellige vekstfaktorer. FGF pluss EGF ble brukt som kontroll. PDGF ga den største økningen. (Gibney et al. 2007)

- PDGF-A kan ha funksjon som en overlevelsesfaktor, som støtter produksjon og overlevelse av oligodendrocytter i kroniske lesjoner (Vana et al. 2007) (**Fig.8**).



**Fig.8.** Apoptose er redusert i humant PDGF-A transgene ((hPDGF-a tg) mus sammenlignet med "wild-type mice" under tilheling fra kronisk demyelinisering. X-akse: antall uker med Cuprisone diett. Y-akse: antall apoptotiske celler per mm². (Vana et al 2007)

## DISKUSJON

Det er oligodendrocytter som danner og opprettholde myelinet. De produseres av oligodendrocytt forstadioceller. Disse forstadiocellene finnes også i det voksne SNS og står for myelinfornyning etter myelineskade (Gallo et al. 2008). Men denne remyeliniseringen blir begrenset etter gjentatte eller kroniske episoder av demyelinisering (Vana et al. 2007, Armstrong et al. 2006, Chang et al. 2002).

Hva som begrenser prosessene har man ikke fullt ut forstått. I en studie ble autopsier av MS pasienter analysert for remyelinisering. Omfanget av remyelinisering varierte. I 20 % av materialene var 60 - 96 % av plakkområdene remyelinisert. Derimot fant man i 67 % av materialene en remyelinisering i plakkområder på under 25 % . Studiet foreslår at remyelinisering er avhengig av lokalisasjonen av demyeliniseringen. Kortikale lesjoner har ofte en bedre remyelinisering enn periventrulære lesjoner. Remyelinisering finnes både i primære og progressive sekundære sykdomstilstander (Patrikos et al. 2006, Piaton et al. 2009).

Patologistudier viser at selv i kroniske MS lesjoner finnes det en lite mengde av umodne oligodendrocytter nær umyeliniserte aksoner, og at disse har evne til å produsere myelin, men ikke gjør det (Chang et al. 2002). Disse cellene kan ha blitt dannet der eller ha vandret dit. I studien utført av Chang et al (2002), ble det undersøkt hjernevev fra autopsier av 10 MS-pasienter. Målet med studien var å se på om de fant oligodendrocytter i kroniske MS lesjoner. De fant ut at i de fleste lesjoner var det mange nydannede oligodendrocytter. Prosentandel av lesjoner med slike nydannede celler reduseres med økende sykdomsvarighet (Chang et al. 2002).

Det finnes oligodendrocytt forstadioceller (OPC) i den voksne hjernen som kan bli til remyeliniserende oligodendrocytter. OPCer er funnet i høye konsentrasjoner i den subventrikulære sonen (SVZ). Ellers er fordelingen utover i SNS lav. SVZ har derfor blitt et fokus for studier som prøver å identifisere cellulære egenskaper og utviklingsegenskaper til OPCer. Forskere studerer også de molekylære mekanismene som regulerer cellenes migrasjon og differensiering (Gallo et al 2008, Piaton et al 2009). Flere studier har vist at OPC kan migrere fra SVZ til forskjellige deler av hjernen

etter demyelinisering eller etter andre patologiske forhold (Gallo et al. 2008, Armstrong 2007). OPC kan også produseres fra embryonale stamceller (Miller et al. 2007). En studie gjennomført av Frost et al. (2009) viste at en selvoppretholdende ekstracellulær-regulert kinasesignalvei driver OPC migrasjon opp til 72 timer etter et innledende PDGF stimulus. Dette funnet indikerer at PDGF kan virke på mobiliseringen av OPC (Frost et al. 2009).

Grad av remyelinisering i MS lesjoner viser stor variasjon. I eksperimentelle modeller med demyeliniserende sykdommer, fant man at remyelinisering begrenses av kronisk sykdom som reduserer antall OPC. Man fant også at kronisk sykdom hindrer differensiering av OPC til remyeliniserende oligodendrocytter og/eller forstyrrer cellenes overlevelse i lesjonsmiljøet. Vekstfaktorer som regulerer OPCenes proliferasjon, differensiering og overlevelse i demyeliniserende lesjoner har blitt identifisert, og PDGF er blant disse (Armstrong 2007, Miller et al. 2007). Vekstfaktorstimulering av OPCer i og ved lesjoner er av interesse fordi det kan potensielt anvendes til å fremme remyelinisering.

Det er viktig å forstå funksjonen til PDGF signalisering i et demyelinisert miljø in vivo (Murtie et al. 2005). In vitro studier har vist at PDGF alene eller sammen med FGF2 kan virke mitogent på OPCer (Armstrong et al. 2007), og en lignende effekt in vivo ville kunne være avgjørende for remyelinisering.

PDGF-A spiller en avgjørende rolle i myelinisering under normal embryogenese. Hos PDGF-A  $-/-$  musembryoer fant man et signifikant redusert antall PDGF-A-reseptor-positive OPCer, og de embryoene som overlevde postnatalt var alvorlig hypomyelinisert. Den optiske nerven hos PDGF-A  $-/-$  mus hadde få myeliniserte aksoner nær chiasma og en komplett mangel på myelin ved den retinale enden. Disse funnene viser at PDGF har en viktig rolle i fordeling av OPCer under SNS-utvikling (Frost et al. 2009).

Sinead et al. (2007) isolerte multipotente nevrale forstadieceller fra embryonal rottehjerne, som de prøvde å differensiere til oligodendrocytter i medium supplert med vekst- og differensieringsfaktorer. De brukte blant annet PDGF. Vekstfaktorene var tilsatt, alene eller i kombinasjon, i mediumet på første dag og deretter annen hver dag. En cellekultur med FGF og "epidermal growth factor" (EGF) ble brukt som kontroll. Alle forholdene induserte differensiering til oligodendroglia. Cellemediet med PDGF alene medførte den største økningen i prosent av PDGF-A-reseptor+ celler sammenlignet med kontroll ( $P < 0.01$ ;  $32.6 \pm 2.2 \%$ ). Studiet viste blant annet at PDGF alene eller i kombinasjon med

sonic hedgehog (SHH) stimulerte multipotente nevrale forstadieceller til proliferasjon som økte celleantallet. PDGF rapporteres å favorisere proliferasjon av OPCer, mens SHH favoriserer modningen av oligodendrocytter (Gibney et al. 2007).

Flere andre studier har studert OPCenes respons på PDGF og FGF2 ved bruk av transgene mus der gendefeksjoner som svekker signaliseringen til PDGF og FGF2 medfører demyelinisering. Studiene viser at PDGF-A knockout mus har en dramatisk svekket produksjon av OPC, oligodendrocytter og myelin.

Murtie et al. (2005) studerte PDGF-A-R heterozygote og FGF2 knockout mus for å evaluere bidraget fra de to vekstfaktorene til remyelinisering. Disse musene fikk en Cuprizone diett som førte til demyelinisering av corpus callosum, etterfulgt av spontan remyelinisering. Etter flere uker ble histologiske snitt fra hjernene til musene analysert. Analysene av PDGF-A-R heterozygot +/- mus viste at nivået av PDGF-A-R ekspresjon kan påvirke oligodendrocyttene tetthet. OPC proliferasjon og oligodendrocytt regenerasjon er svekket i PDGF-A-R heterozygoter i forhold til homozygoter. En sammenligning av PDGF-A-R +/- mus, FGF2 knockout (-/-) mus, og PDGF-A-R +/- FGF2/- mus demonstrerte at minsket PDGF-A-R og FGF2 ekspresjon samarbeider ikke om svekkelse av OPC proliferasjon og differensiering. Oligodendrocytt differensiering finner man oftere i FGF2/- mus. FGF2 knockdown i kombinasjon med PDGF-A-R +/- genotyp hindrer svekkelsen av oligodendrocyttproduksjon. Dette demonstrerer distinkte roller til PDGF-A og FGF2 in vivo. Resultatene viser også at PDGF er et nødvendig endogent mitogen for oligodendrocytter i SNS til voksne mus og at den endogene PDGF-A-R signalisering spiller en viktig rolle i å forfremme OPC proliferasjon i et demyeliniserende miljø. I respons til demyelinisering kan PDGF stimulere hvilende OPC til hurtig proliferering uten å forstyrre celledykluslengden under sykdomsprogresjon. I studien påpeker forskerne at i deres sykdomsmodell, som i de fleste dyreeksperimentelle modeller, er forholdene i det in vivo miljøet tilrettelagt slikt at remyelinisering lettere forekommer. De etterlyser videre studier av remyelinisering i in vivo miljøer som er mindre gunstige, slik at de er sammenlignbare med sykdomsforhold hos mennesker (Murtie et al. 2005).

I de foregående studiene har man sett at PDGF-A-R signalisering kan stimulere OPC proliferasjon i respons til *akutt* demyelinisering. I en annen studie (Vana et al. 2007) undersøkte man PDGF-A ekspresjon ved *kroniske* demyeliniserende lesjoner hos mus. Forskerne induserte corpus callosum demyelinisering ved å gi et Cuprizone-holdig diett til transgene mus som uttrykker human PDGF-A

uttrykt spesifikt hos astrocytter. Både akutte og kroniske demyeliniserende lesjoner ble undersøkt, og man undersøkte også lesjonene i en tilhelingsperiode med normal diett. Remyelinisering og oligodendrocytt-tettheten var forhøyet i hPDGF-A mus sammenlignet med andre mustyper i de akutte demyeliniserte lesjoner. Men i de kroniske demyeliniserte lesjoner fant man derimot at OPC tetthet og proliferasjon ikke var økt sammelignet med andre mustyper. I de kroniske lesjonene fant man at apoptose av oligodendrocytter fortsatte under tilhelingsfasen, men var lavere enn hos kontroll mus. PDGF-As gunstig effekt ble tilsynelatende motvirket i de kroniske lesjonene i forhold til de akutte, noe som kanskje kan settes i sammenheng med OPCenes generelt begrensede evne til å generere remyeliniserende oligodendrocytter i en kronisk fase.

Forebygging av apoptose er derfor viktig for å forbedre remyelinisering i kroniske lesjoner. Et spørsmål som man da kan stille seg er om det finnes i kroniske lesjoner skadelige tilleggsfaktorer, f.eks. cytokiner, som forsterker apoptose, eller om det mangler faktorer som er til stede i akutte lesjoner og som samarbeider med PDGF-A for å gi adekvat støtte for oligodendrocyttenes overlevelse (Vana et al 2007).

I en annen studie (Frost et al 2002), ble signaler som regulerer OPC proliferasjon i respons til demyelinisering undersøkt. Til denne studien brukte forskerne murine hepatitvirus-159 (MHV- A59) infeksjon til å indusere lokal demyelinisering. Forskerne isolerte deretter gliaceller fra ryggmargen av de MHV-A59 infiserte mus som de dyrket in vitro . Gliacellene ble isolert ved forskjellige stadier av sykdomsprosessen, for å analysere effektene av PDGF og FGF2 på reguleringen av oligodendrocyttenes proliferasjon og differensiering assosiert med remyelinisering. Undersøkelsene viste at proliferasjon av PDGF-A-R+ OPC var økt i MHV-a59 modellen. Man fant proliferasjonen av OPC ved induksjon av endogene PDGF og FGF2, men ikke av eksogene PDGF og FGF2 under de første 2 ukene av sykdomsprosessen. Etter 4 uker viste også eksogene vekstfaktorer effekt. Dette viser at sykdomsstadie kan ha noe å si for effekten av eksogene og endogene PDGF og FGF2 (Frost et al. 2007).

## KONKLUSJON

In vivo transgene studier viser at PDGF er et nødvendig mitogen for oligodendrocytter. PDGF viser å ha effekt på mobilisering av OPC til demyeliniserende lesjoner. Den har også effekt på å indusere proliferasjon av OPC, og ikke minst på å redusere apoptose hos oligodendrocytter under demyelinisering. Selv om man nå vet at PDGF har betydelig direkte og indirekte effekter på remyelinisering hos dyr, har man ikke nådd målet med å lage PDGF-baserte terapeutiske behandlingsmetoder som kan øke remyelinisering i MS-pasienter.

Sannsynligvis er ikke en enkel vekstfaktor tilstrekkelig til å generere en stabil, langvarig remyelinisering, særlig ved kroniske lesjoner. Hvilke vekstfaktorer virker best sammen? Og når og hvordan skal de administreres for å få best mulig effekt?

Resultatene om de gunstige effektene av PDGF har man fått hovedsaklig fra in vitro studier. In vivo studier støtter de in vitro studier, men det er fortsatt uklart om man kan oppnå like gunstige effekter in vivo. Flere utfordringer finnes. Blant annet ser det ut til at kroniske lesjoner skaper et mer komplisert miljø som begrenser PDGFs effekt, og at effekten(e) kan også variere med tid under sykdomsprosessen. Hvordan kan man manipulere lesjonsmiljøet for å kunne optimalisere remyeliniseringen i in vivo? Vil behandling med vekstfaktorer måtte skreddersyes den enkelte pasient?

Mye er fortsatt ukjent. Men kunnskap om OPCer, fra migrasjon til differensiering og til de blir modne remyeliniserende oligodendrocytter, er fortsatt gjenstand for mye forskning. Man kan se for seg at økning av myeliniseringsfremmende vekstfaktorer i demyeliniserende områder vil kunne være en god strategi for fornying av myelin i fremtiden. Man håper derfor at forskningen vil snart gi oss behandlingsmetoder som kan bidra til remyelinisering av aksoner i MS og andre demyeliniserende sykdomer i SNS.

## REFERANSER

Armstrong RC. Growth factor regulation of remyelination: behind the growing interest in endogenous cell repair of the CNS. *Future Neurol.* 2007 Nov;2(6):689-697.

Armstrong RC, Le TQ, Flint NC, Vana AC, Zhou YX. Endogenous cell repair of chronic demyelination. *J Neuropathol Exp Neurol.* 2006 Mar; 65(3):245-56.

Brodal P. Nervecellenes funksjonelle egenskaper. I: Per Brodal. Sentral Nervesystemet. 3. utg., 2. opplag Oslo: Universitetsforlaget, 2003: 59 - 104.

Brodal P. Nervesystemets bygningselementer. I: Per Brodal. Sentral Nervesystemet. 3. utg., 2. opplag Oslo: Universitetsforlaget, 2003: 31 – 58.

Chang A, Tourtellotte WW, Rudick R, Trapp BD. Premyelinating oligodendrocytes in chronic lesions of multiple sclerosis. *N Engl J Med.* 2002 Jan 17;346(3):165-73.

Fretheim A. Behandling av multipel sklerose. I: Redaktør Arild Bjørndal.

Multipel sklerose, Medisinsk informasjon, 07 Kunnskapsbasert helsefaglig oppdatering. Medlex Norsk helseinformasjon, 2007: 13 - 16.

Frost EE, Nielsen JA, Le TQ, Armstrong RC. PDGF and FGF2 regulate oligodendrocyte progenitor responses to demyelination. *J Neurobiol.* 2003 Feb 15;54(3):457-72.

Frost EE, Zhou Z, Krasnesky K, Armstrong RC. Initiation of oligodendrocyte progenitor cell migration by a PDGF-A activated extracellular regulated kinase (ERK) signaling pathway. *Neurochem Res.* 2009 Jan;34(1):169-81



- Gallo V, Armstrong RC. Myelin repair strategies: a cellular view. *Curr Opin Neurol.* 2008 Jun;21(3):278-83.
- Gibney SM, McDermott KW. Differentiation of oligodendrocytes in neurospheres derived from embryonic rat brain using growth and differentiation factors. *J Neurosci Res.* 2007 Jul;85(9):1912-20.
- Miller RH, Bai L. Cellular approaches for stimulating CNS remyelination. *Regen Med.* 2007 Sep;2(5):817-29.
- Multipel sklerose. Norsk helseinformatikk, publisert 23.04.2009.  
<http://www.legehandboka.no/>
- Murtie JC, Zhou YX, Le TQ, Vana AC, Armstrong RC. PDGF and FGF2 pathways regulate distinct oligodendrocyte lineage responses in experimental demyelination with spontaneous remyelination. *Neurobiol Dis.* 2005 Jun-Jul;19(1-2):171-82.
- Myhr KM. Multipel Sklerose. I: Redaktør Arild Bjørndal. Multipel sklerose, Medisinsk informasjon, 07 Kunnskapsbasert helsefaglig oppdatering. Medlex Norsk helseinformasjon, 2007. pp 6 – 10.
- Patrikios P, Stadelmann C, Kutzelnigg A, Rauschka H, Schmidbauer M, Laursen H, Sorensen PS, Brück W, Lucchinetti C, Lassmann H.. Remyelination is extensive in a subset of multiple sclerosis patients. *Brain.* 2006 Dec;129 (Pt 12):3165-72.
- Pearlman AL. Collins Robert C. *Neurobiology of disease.* New York: Oxford University Press, 1990
- Piaton G, Williams A, Seilhean D, Lubetzki C.: Remyelination in multiple sclerosis. *Prog Brain Res.* 2009;175:453-64.
- Redwine JM, Armstrong RC: In vivo proliferation of oligodendrocyte progenitors expressing PDGF $\alpha$ R during early remyelination. *J. Neurobiol.* 37(3),413-428 (1998).

Sand O, Sjaastad ØV, Haug E. Nervesystemet. Menneskets fysiologi. 1 utg.

Oslo: Gyldensal Norsk Forlag AS, 2005: 104 – 115.

Sørensen PS. Sklerosis disseminata. I: Olaf B. Paulson, Flemming Gjerris og

Per Soelberg Sørensen. Klinisk Neurologi og Neurokirurgi. 4. utgave. Copenhagen: FADL's

Forlag Aktieselskab, 2004: 512 – 52

Vana AC, Flint NC, Harwood NE, Le TQ, Fruttiger M, Armstrong RC. Platelet-derived growth factor promotes repair of chronically demyelinated white matter.

J Neuropathol Exp Neurol. 2007 Nov;66(11):975-88.